

München 1968

Experimentelle Untersuchungen zur Frage
der Möglichkeit des chemischen Nachweises
bakterieller Toxine in menschlichen
Körperflüssigkeiten.

von

ELMAR BEUTNER

Aus der Augenklinik der Universität München
(Vorstand: Professor Dr.med. Wilhelm Rohrschneider)

Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Möglichkeit
des chemischen Nachweises bakterieller Toxine
in menschlichen Körperflüssigkeiten.

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer
Hohen Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität zu München

vorgelegt
von
Elmar Beutner
aus
München

1960



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. med. Hans Remky
Dekan: Professor Dr. med. Herbert Schwiegl

Tag der mündlichen Prüfung: 26. Juli 1960

Meiner lieben Mutter

Die Wissenschaft diene
der Liebe zum Mitmenschen.

Die Aufklärung grundlegender Infektionsvorgänge ist in allen medizinischen Disziplinen ein wesentlicher Teil der klinischen Forschung. Jeder infektiöse Vorgang ist von Phänomenen begleitet, die wir als "Entzündung" bezeichnen. So liegt es nahe, daß auch in der Augenheilkunde die Kenntnis vom Mechanismus der Entzündung und von daraus resultierenden Abwehrleistungen des Organismus (lokal und allgemein) eine Aufgabe der Grundlagenforschung darstellt.

So hat der polnische Ophthalmologe W.J. KAPUSCINSKI zusammen mit seinen Mitarbeitern Untersuchungen über Ätiologie und Pathogenese von Iridozyklitiden durchgeführt, im Verlauf derer er neben bakteriologischen auch biochemische Methoden verwendete, welche die Anwesenheit und die pathogenetische Rolle von Bakterien (insbesondere von Staphylokokken) und von deren Stoffwechselprodukte sichern sollten. Die genannten Autoren verwenden hierbei eine Methode von KOLOBOLOCKI zum Nachweis von "Bakterientoxinen" in Körperflüssigkeiten.

Technik der Methode nach Kolobolocki: 0,1 ccm Kammerwasser wird in 1,0 ccm physiologischer NaCl-Lösung gebracht und unter beständigem Durchschütteln mit je einem Tropfen 1 % Methylenblau, 0,5 % Silbernitrat, 40 % Kochsalzlösung und 1 % Kaliumpermanganatlösung versetzt. Bei positiver Reaktion tritt Blaufärbung ein, deren Intensität durch + bis ++++ bezeichnet wird; bei negativer Reaktion erscheint die Lösung zunächst rotviolett und entfärbt sich dann schnell.

Diese Reaktion von Kolobolocki wird von Kapuscinski und Mitarbeitern folgendermaßen erklärt: Alle "Bakterientoxine" haben die gleiche biochemische Struktur. Ihre Hauptkomponenten sind Polysaccharide, deren Komplexe das Oxydations-Reduktions-Potential von Fleischextrakten oder anderen Nährlösungen herabzusetzen vermögen. Gibt man dem Extrakt eine Lösung von Silbernitrat hinzu, so erhält man eine oxydierte Form der "Toxine". Je mehr oxydierte "Toxine" vorhanden sind, um so mehr Kaliumpermanganat wird dann für die Reduktion benötigt. Um das Ende der Reaktion festzustellen, bedarf es eines Indikators, der sich entfärbt. Deshalb führt man in den geprüften Extrakt einen Farbstoff ein, der sich

im Verlauf der Reduktion entfärbt, unter der Bedingung, daß sein Potential dem des Extraktes ähnlich ist. Anfangs ist es eine Reaktion des Kaliumpermanganats mit den oxydierten "Toxinen", hingegen am Ende mit dem Indikator. Folglich entfärbt sich, wenn der Extrakt oder die geprüfte Lösung frei von "Toxinen" sind, der Farbstoff sofort und die Lösung nimmt die violette Farbe des Kaliumpermanganats an. In Gegenwart von "Toxinen" dagegen bewahrt die Lösung die Farbe des Indikators. Man kann mehrere basische Farbstoffe als Indikatoren verwenden: Kresolblau, Brillantkresolblau, Toluidine, Methylenblau, Methylenazurblau, Natrium diphenyl-amino-sulfuricum.

Des weiteren berichtete Kapuscinski 1956 noch, M. COCOT habe in einer noch nicht veröffentlichten Arbeit (Aus dem Institut für Hygiene an der Landwirtschaftshochschule Wroclaw) festgestellt, daß diese Reaktion mit lebenden wie auch abgetöteten Staphylokokken immer positiv ausfalle. Die Probe falle auch positiv aus mit Staphylokokkenfiltraten. Ein positives Resultat habe er ferner erhalten mit den Filtraten von clostridium botulinum und clostridium perfringens. Die Reaktion sei mit Frischfleischextrakt nicht entbluteter Tiere negativ ausgefallen. Ein negatives Ergebnis habe man auch mit den chemisch reinen Endotoxinen (Methode von MIKULASZEK und RADOMSKI) der Salmonella Typhi murium, wie auch mit dem Extrakt des durch diese Bakterien infizierten Fleisches immer positiv ausfällt. Nach Kolobolocki und Cocot ist die Reaktion auch positiv bei: Tuberkulin, Mallenin (Antigen von Pasteurella), Tetanustoxin, sowie Extrakt von Staphylococcus aureus, B.subtilis, Proteus vulgaris, B.enteritidis, B.abortus bovis, B.botulinus und mit Extrakten aus entsprechend infiziertem Material.

Als Ergebnis von Untersuchungen über den Nachweis von "Bakterientoxinen" im Kammerwasser und Konjunktivalsack legten Kapuscinski und Mitarbeiter folgende Auffassungen dar: Klinische und experimentelle Tatsachen lassen die Vermutung zu, daß eine hyperergische Reaktion - wobei das Histamin der Hauptfaktor zu sein scheint (nach DALE und LAIDLAW) - nicht als einzige und ursprüngliche Ursache bei der Iridozyklitis angesehen werden kann. Kapuscinski und Mitarbeiter (OGIELSKA, sowie SKURSKI und OGIELSKI) haben da-

her bei ihren Arbeiten die Bakterienflora bei Iridozyklitiden untersucht und chemische Untersuchungen zum Nachweis von "Bakterientoxinen" im Kammerwasser und im Konjunktivalsack durchgeführt. Diese führten zu folgenden Ergebnissen:

- 1) Mittels der biochemischen Farbreaktion nach Kolobolocki wurde bei endogener Iridozyklitis (45 Fälle) die Anwesenheit von "Bakterientoxinen" im Kammerwasser aufgedeckt.
- 2) Mit derselben Reaktion wurde bei Iridozyklitis auch die Anwesenheit von "Toxinen" im Konjunktivalsack wahrscheinlich gemacht.
- 3) Bei Iridozyklitis wird eine Beziehung zwischen Virulenz des Staphylokokkenstammes und dem Grad der biochemischen Reaktion auf "Toxine" im Kammerwasser vermutet.

Als Beweis für die Spezifität der Reaktion nach Kolobolocki führten Kapuscinski und Mitarbeiter folgende Befunde auf:

Bei einer Gruppe von Kaninchen wurde eine hyperergische, bei einer zweiten Gruppe eine bakterielle Iridozyklitis ausgelöst.

In der ersten Gruppe wurden 16 Kaninchen durch i.v. Injektion von 5-7 ccm Pferdeserum sensibilisiert. Drei Wochen später führte man Serum vom selben Pferd in die Vorderkammer des Kaninchens ein. Vier Kaninchen reagierten mit einem anaphylaktischen Schock, der durch Injektion von Adrenalin coupiert werden konnte. Am darauffolgenden Tag hatte sich bei allen Kaninchen eine akute Iridozyklitis manifestiert. Ihr Erscheinungsbild war gekennzeichnet durch eine konjunktivale Hyperaemie, eine tiefe ciliäre Injektion, ein sero-fibrinöses Exsudat in der Vorderkammer, und hintere Synechien der Iris. Innerhalb einer Woche trat fast völlige Erholung ein. In zwei Fällen mit schwerem Verlauf war offenbar eine exogene Infektion eingetreten. 24 Stunden nach der intracamerale Reinjektion von Pferdeserum wurde bei allen Kaninchen 0,2 ccm Kammerwasser entnommen, mit welchem man dann die biochemische Reaktion nach Kolobolocki ausführte. Diese fiel mit dem 1. Kammerwasser negativ aus, mit dem 2. Kammerwasser dagegen leicht positiv.

Bei der 2. Gruppe von 14 Kaninchen provozierte man eine bakterielle Iridozyklitis durch intracamerale Injektion standardisierter

Staphylokokkenstämme. Bei allen Kaninchen verlief der Entzündungsprozeß ähnlich: man beobachtete eine konjunktivale und tiefe ciliäre Injektion, eine mehr oder weniger ausgeprägte Infiltration der Hornhaut am Ort des Impfstiches, ein serofibrinöses oder sogar purulentes Exsudat in der Vorderkammer, und Irissynechien, in zwei Fällen sogar eine Panophthalmie. Am folgenden Tag entnahm man 0,2 ccm Kammerwasser, mit welchem man die Reaktion nach Kolobolocki ausführte; in allen Fällen von bakterieller Iridozyklitis fiel sie positiv aus.

Weitere Untersuchungen von Kapuscinski ergaben: Menschliches Kammerwasser reagiert sowohl nach der ersten als auch nach der zweiten Punktion negativ. Die Reaktion nach Kolobolocki fällt dagegen immer positiv aus mit Menschen- und Pferdeserum, und auch mit dem zweiten Kammerwasser des Kaninchen (welches wesentlich eiweißreicher ist als das erste). Als Ursache der auch ohne Anwesenheit von "Toxinen" positiven Reaktionen werden Eiweißkörper oder Aminosäuren vermutet. Kapuscinski und Mitarbeiter regten daher an, elektrophoretische und chromatographische Untersuchungen des entzündeten Kammerwassers durchzuführen um die Bedeutung irgendwelcher Eiweißstoffe oder Aminosäuren aufzuhehlen; mit Tryptophan und Tyrosin konnten positive Reaktionen erzielt werden.

H. REMKY überprüfte die Methodik und die Ergebnisse von Kapuscinski und Mitarbeiter im Tierversuch. Hierbei erwies sich, daß der positive Ausfall der von Kolobolocki beschriebenen Methode direkt vom Proteingehalt des Kammerwassers abhängt. H. Remky stellte fest, daß nach Ultrafiltration (Membranfilter Lsg 60 der Membranfilter-Gesellschaft Göttingen) unter 15 Atü die Farb-reaktion des Serums mit wenigen Ausnahmen nicht mehr positiv ausfiel. Alle Serumeiweißkörper, einschließlich Fibrinogen, bilden Komplexe, die sich nicht entfärben. Erwiesen hat sich ferner, daß die Methode nach Kolobolocki keine quantitativen Bestimmungen ermöglicht; selbst mit Hilfe der Photometrie war es nicht möglich, exakte Ergebnisse zu erzielen. Die von H. Remky schließlich entwickelte, von uns anschließend noch zu beschreibende Versuchsanordnung erbrachte im Tierversuch, nach Kokkeninfektion der

vorderen Augenabschnitte, den Nachweis eines chemisch noch nicht analysierten, kleinmolekularen und thermostabilen Stoffes. Da die Methode von H. Remky eine exakte quantitative Lipopolysaccharidbestimmung ermöglicht (Pyrifer, Pyrexal), werden die in eigenen Versuchen ermittelten Werte auf diejenigen bezogen, welche an standardisierten Lösungen (Pyrifer) gefunden worden waren.

Methodik nach H. R E M K Y :

- 1) Enteiweißung: Aufbringen der Untersuchungsmenge (0,1 ccm) auf kupfersulfatgetränkte runde Flachfilter, welche für 5 min. trockener Hitze (110°C) ausgesetzt werden. Die Filter werden dann mit Vaselindichtung zwischen Kunststoffringe gespannt und durch 3,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen.
- 2) Chemische Reaktion: Das Filtrat wird mit 0,1 ccm einer 1 % Kaliumpermanganatlösung versetzt; unter der Einwirkung von Pyrifer oder Pyrexal fällt Braunstein aus. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist temperaturabhängig: bei Zimmertemperatur (18°C) 1 Stunde. Die Röhrchen sind zu verschließen, da Luftsauerstoff Lipopolysaccharide abbaut.
- 3) Titration: nach Abzentrifugierung des Braunsteins wird 1,0 ccm der Permanganat-Restlösung mit 100 mg/% Ascorbinsäure titriert. Kein physiologischer Bestandteil des Serums oder anderer Körperflüssigkeiten des Menschen reagiert nach Enteiweißung wie Pyrifer, Pyrexal.

Eigene Untersuchungen.

Es wurde uns die Aufgabe gestellt, das Serum klinisch gesunder Personen auf den Gehalt an Substanzen zu untersuchen, welche wie Lipopolysaccharide reagieren, ferner einen Überblick der Normalwerte und deren Streubreite zu ermitteln.

Untersuchungsmaterial:

Wir titrierten nach der Methode von R e m k y Seren von 210 Münchner Blutspendern, deren Gesundheit durch die laufenden Kontrollen seitens der Blutspenderzentrale gewährleistet ist.

Wir holten die Blutproben selbst in der Spenderzentrale ab, wo wir an Ort und Stelle durch Zentrifugieren das Serum gewannen. Alle Blutproben waren am Untersuchungstag entnommen worden. Wir achteten streng darauf, nur frisches Material zu untersuchen, damit die Möglichkeit der Miterfassung von Eiweißabbauprodukten (infolge Lagerung) ausgeschlossen war. Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sind anschließend in Form von Kurven graphisch dargestellt.

Abbildung I

Verteilungs-Kurve der erhaltenen Titrationswerte.

+ -Werte = absolute Meßwerte

- _Werte = berichtigte Kurvenwerte

Ordinate gibt Zahl der T.E. (Toxin-Einheiten) wieder

Abszisse gibt Zahl der Fälle.

Mathematische Daten zur Normalverteilungskurve:

Anzahl der Fälle: 210

Klassenbreite: 0,01 T.E.

Variationsbreite: 0,01 - 0,24 T.E.

Mittelwert: 0,104 T.E.

Streuung (mittl. quadr. Abweichung): 0,045 T.E.

Mittlere Streuung: $0,104 \pm 0,045$ T.E.

Mittl. Fehler des Mittelwertes: 0,00098 T.E.

Mittl. Fehler der Streuung: 0,0007 T.E.

Die Grenze des Normalbereiches, allgemein mit ± 2 Sigma (Streuung) über und unter dem Mittelwert anerkannt, liegt bei 0,014 und 0,194 T.E., und erfaßt 96 % aller Varianten.

Die Ergebnisse stellen sich annähernd in Form einer Gauß'schen Kurve dar. Auf Grund der erhaltenen Werte möchten wir vorschlagen, die Normalwerte auf 1 - 20 T.E. festzulegen.

(Die Toxin-Einheit (T.E.) ist ein Coli-Toxin-Äquivalent aus dem Pyrifer.)

Normalverteilung

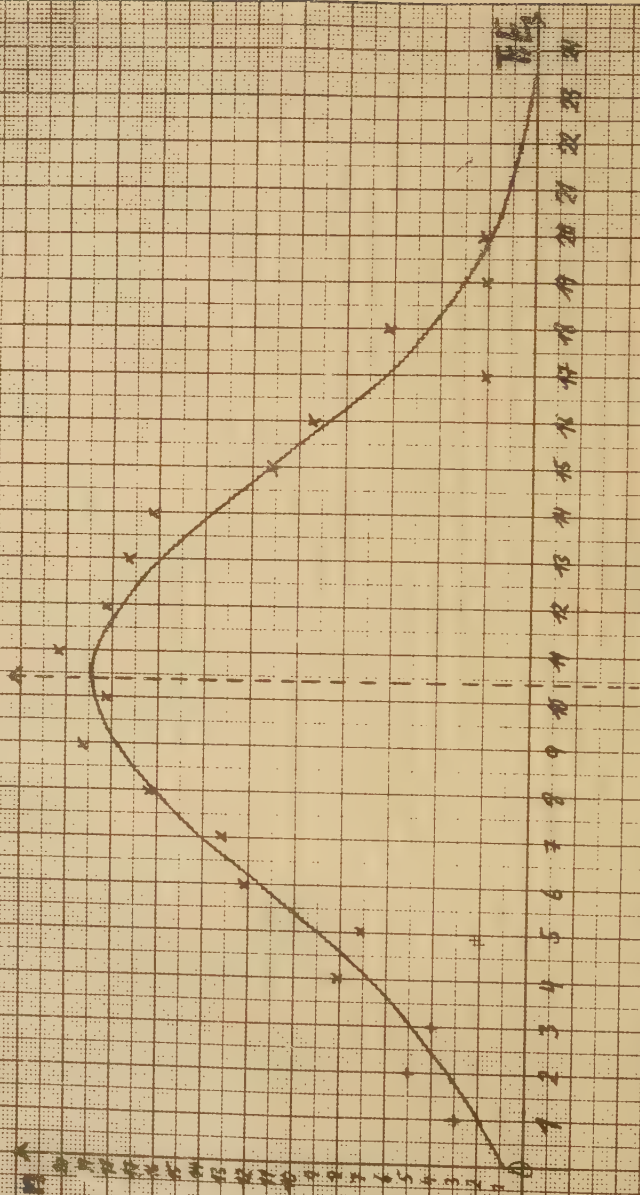


Abbildung II

Aufschlüsselung der Titrationswerte nach Geschlechtern.

Aus den Kurven ist ersichtlich, daß nur ein geringer Unterschied im Verhalten der Werte bei Mann und Frau gefunden wurde. Möglicherweise liegt die Ursache dafür in Einflüssen des Menstruationszyklus (die Probandinnen befinden sich durchwegs im geschlechtsreifen Alter vor dem Klimakterium). Auch könnten qualitativ und quantitativ Auswirkungen von banalen Entzündungsprozessen im Bereich der unteren Genitalwege der Frau, welche ja sehr häufig sind, eine Rolle spielen.

Es scheint, daß die Werte bei den Frauen etwas höher liegen als beim Mann.

Mathematische Auswertung folgt der der Normalkurve.

Vergleich von Mann
und Fract

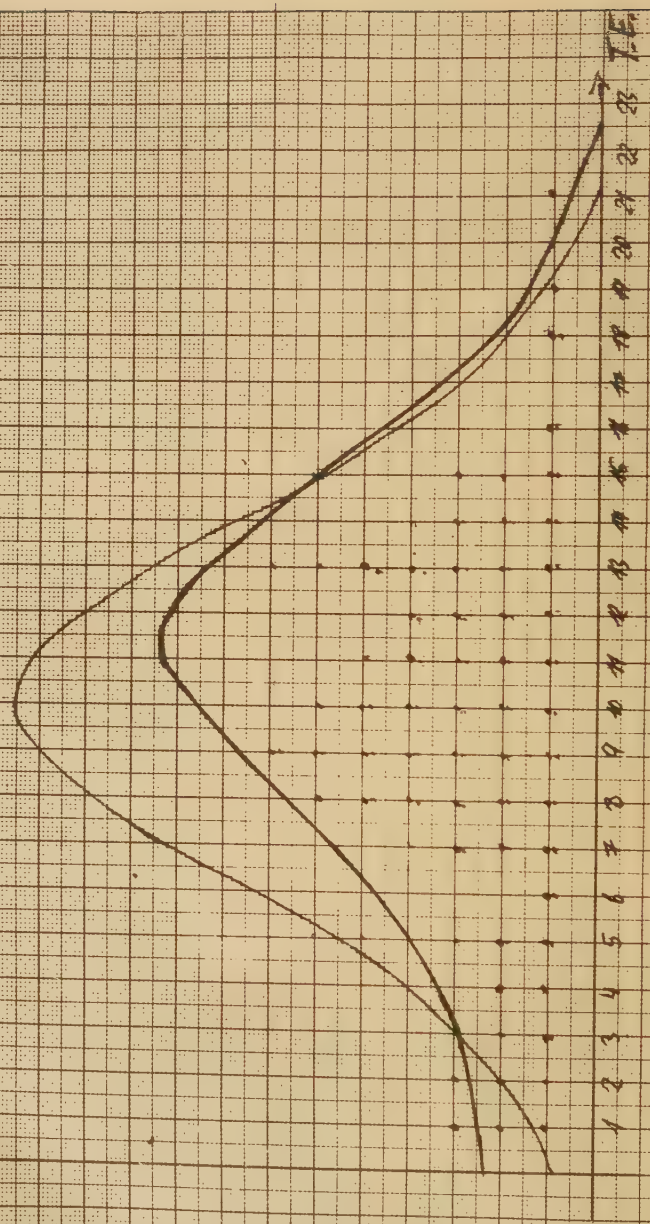


Abbildung III

Aufschlüsselung der Titrationswerte nach Alter.

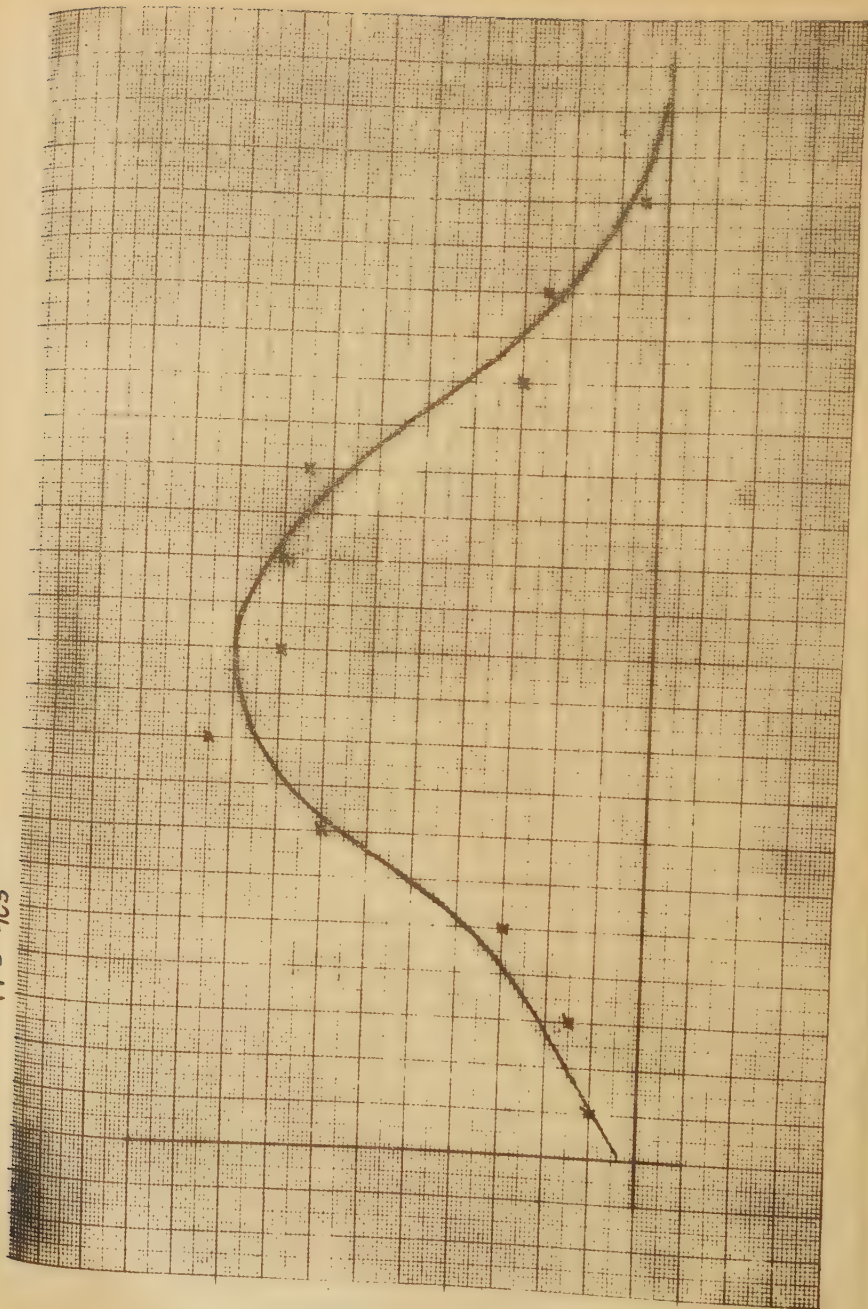
- + -Werte = absolute Meßwerte
- -Werte = berichtigte Kurvenwerte

Wir haben die Probanden in zwei gleichgroße Gruppen eingeteilt:

- 105 im Alter von 20 bis 28 Jahren
- 105 im Alter von 29 bis 55 Jahren.

Ein signifikanter Unterschied in der von uns getroffenen Einteilung in zwei Altersstufen ist nicht erkennbar.

$n = 105$



Alter: 20-28 g.

$n = 105$

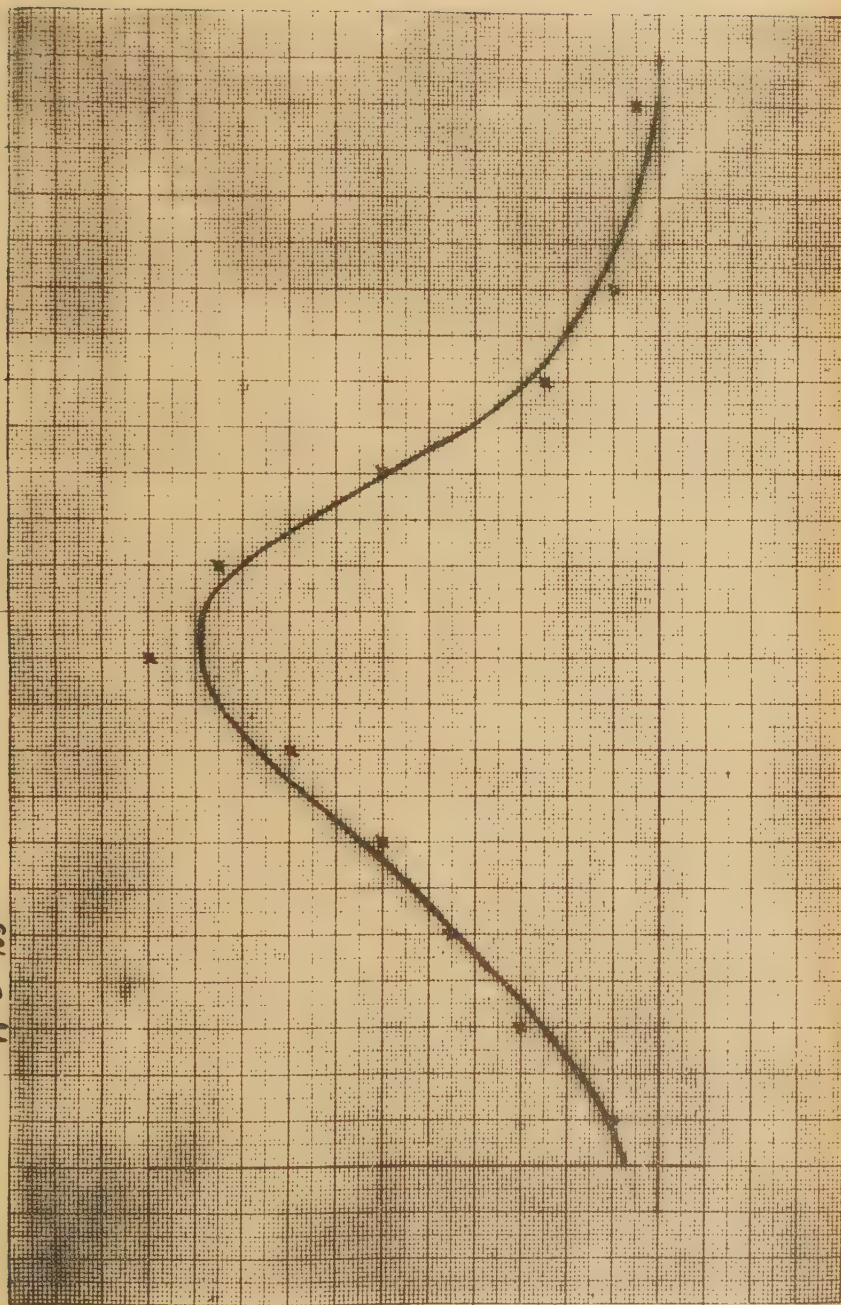


Abbildung IV und V

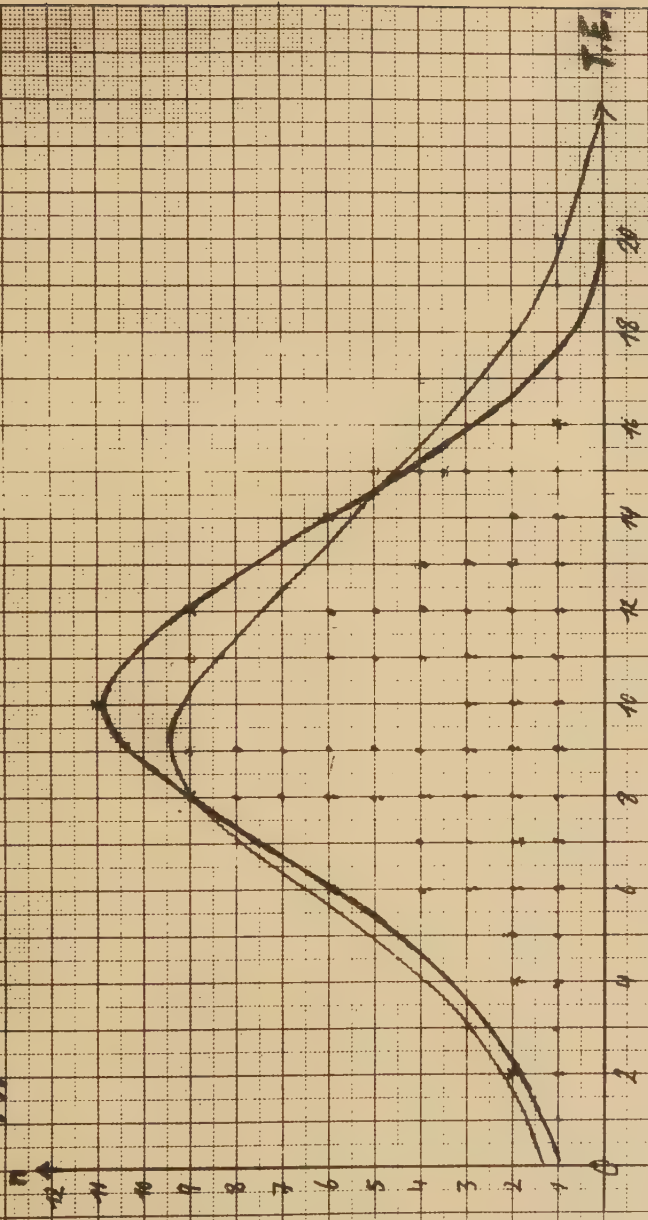
Aufschlüsselung der Titrationswerte nach Rhesus-Faktor und Blutgruppen.

Die von uns gewonnenen Kurven lassen erkennen, daß Zusammenhänge zwischen den Blutgruppenserologischen Faktoren und dem Testausfall nach Kolobolocki-Remky offensichtlich nicht vorliegen.

(Allerdings ist begreiflicherweise die Zahl der rh-negativen Blutspender normalerweise erheblich geringer als die der Rh-positiven; wir haben um der statistischen Sicherheit willen jedoch uns bemüht, gleichgroße Probandengruppen zu vergleichen)

$n = j\omega$

$R_h =$
 $r_h =$



Blutgruppenen

一
 二
 三
 四
 五
 六
 七
 八
 九
 十
 十一
 十二
 十三
 十四
 十五
 十六
 十七
 十八
 十九
 二十
 二十一
 二十二
 二十三
 二十四
 二十五
 二十六
 二十七
 二十八
 二十九
 三十
 三十一
 三十二
 三十三
 三十四
 三十五
 三十六
 三十七
 三十八
 三十九
 四十
 四十一
 四十二
 四十三
 四十四
 四十五
 四十六
 四十七
 四十八
 四十九
 五十
 五十一
 五十二
 五十三
 五十四
 五十五
 五十六
 五十七
 五十八
 五十九
 六十
 六十一
 六十二
 六十三
 六十四
 六十五
 六十六
 六十七
 六十八
 六十九
 七十
 七十一
 七十二
 七十三
 七十四
 七十五
 七十六
 七十七
 七十八
 七十九
 八十
 八十一
 八十二
 八十三
 八十四
 八十五
 八十六
 八十七
 八十八
 八十九
 九十
 九十一
 九十二
 九十三
 九十四
 九十五
 九十六
 九十七
 九十八
 九十九
 一百

四

AB

22

A2

A

一

子

3

7

2

子

4

4

十

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	-----

1

五

...

10

五

—

...

—

4

1

1000

Zusammenfassung:

Die Nachprüfung von Versuchen zum chemischen Nachweis bakterieller Toxine durch Kolobolocki und durch Kapuscinski und Mitarbeiter führten zur Entwicklung einer Methode (H. Remky), welche die quantitative Bestimmung von Lipopolysacchariden (Pyripher, Pyrexal) in einer Größenordnung bis zu 0,0008 μ ermöglicht.

Die erwähnte Methode beruht auf der Oxydierbarkeit von Lipopolysacchariden; die Sauerstoffabgabe von Kaliumpermanganat wird indirekt titrimetrisch ermittelt.

Bei experimenteller Kokken-Uveitis enthält das Kammerwasser kleinmolekulare Substanzen, welche wie Lipopolysaccharide reagieren, und deren Konzentration in Lipopolysaccharidäquivalenten angegeben werden kann. Die Beobachtung, daß die erwähnte Substanz auch mitunter im menschlichen Serum vorkommt, gab Anlaß zur Überprüfung einer größeren Reihe menschlicher Seren. Über das Ergebnis entsprechender Untersuchungen wird berichtet. In einer Reihe von 210 Sera klinisch gesunder Personen lag der durchschnittliche Lipopolysaccharidäquivalentwert bei 0,104 T.E., das Maximum betrug 0,24 T.E. bei einer binomialen Verteilung. Signifikante Beziehungen zwischen Lipopolysaccharidäquivalentwerten und Alter, Geschlecht oder Blutgruppe ergaben sich nicht. Obwohl die durch die beschriebenen Versuche nachgewiesene Substanz nicht analysiert ist, darf vermutet werden, daß die erwähnte chemische Methode zur Prüfung der Eignung von Serumkonserven zum klinischen Gebrauch geeignet erscheint; ferner erscheint es möglich, daß die ermittelten Normalwerte menschlicher Sera als Basis für weitere Untersuchungen verwendet werden können.

Literatur:

- CORRE L., Recherches expérimentales sur le pathogénie des infections à colibacille. Thèse, Paris (1943), S. 104.
- DOWLING H., Botulism, Tetanus.
- The acute bacterial diseases. F.A.C.P., N.Y. (1948), S.437.
- EICHENBERGER E., SCHMIDHAUSER-KOPP M., HURNI H., FRISCAY M., WESTPHAL O., Biologische Wirkungen eines hochgereinigten Pyrogens (Lipopolysaccharide) aus Salmonella abortus equi. (Pyrexal). Schweizer Medizinische Wochenschrift, Basel, 85 (49), 3.Dez. 1955, S. 1190 -6 und 85 (50), 10.Dez.1955, S. 1214 -8.
- FAVEZ G., AGUET F., BOSSY A., La thérapeutique de stimulation non spécifique dans la tuberculose pulmonaire évolutive; emploi des oxyphyles. Schweizer Zeitschrift für Tuberkulose und Pneumologie, Basel, 12 (5), 1955, S.324 - 35.
- FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ, Über Bakterien und Toxine. Physiologische Chemie, II. Teil, Bandteil b, (1957), S. 895, S. 914 -79.
- MEYNINGEN W.E. van, The role of toxins in pathology. Symp. Soc.Gen.Microbiol. 5, 17 - 39, (1955).
- Recent developement in the field of bacterial toxins. Schweiz. Z. Path.Bakt. 18, 1018 -35, (1955).
- KAPUSCINSKI W.J., OGIELSKI L., OGIELSKA E., Recherches expérimentales sur le facteur hyperergique et bactérien dans les iridocyclites. Bulletins et mémoires de la Société Française d'Ophtalmologie, (1956).
- KRÖGER E., Immunologische Untersuchungen mit Lipopolysaccharidfraktionen aus Salmonella-Bakterien (SO- und RO-Form). Zeitschrift f.Nat.forschung, 10 b, (1955), S.709.
- LANDY M., PILLEMER L., Elevation of properdin levels in mice following administration of bacterial lipopolysaccharids. J. Exp.M., (1956), 103 (6), S. 823.
- EHRICH W.E., Über Bakterien und Toxine. Handbuch der Allgemeinen Pathologie, Band VII (1956), S. 44 - 61, S. 145.

- WEGNER P., Gramnegative Bakterien: Typhus, Coli, Abortus equi. Zeitschr. f. Naturwissenschaften, Basel (1947), Nr. 34, S. 59.
- WESTPHAL O., LÜDERITZ O., EICHENBERGER E., NETER E., Chemische Wirkgruppen in bakteriellen Lipopolysaccharid-Reizstoffen. Deut.Zschr.Verdaunungskr., (Sept.55), 15 (4-5).
- WESTPHAL O., LÜDERITZ O., Chemische Erforschung von Lipopolysacchariden gramnegativer Bakterien. Angewandte Chemie (1954), Basel, S. 407.
- WESTPHAL O., LÜDERITZ O., EICHENBERGER E., KEIDERLING W., SCHRAMM G., Reindarstellung eines Polysaccharid-Pyrogens aus Bact.coli. Zeitschrift f.Nat.forschung, 7 b 1952, (VII 765), S. 536.
- ZABLOCKI B., ROLICKA M., Effect of Lipid-polysaccharide-protein simplexes on sensitivity of Staphylococcus to penicillin. Acta Microbiologica Polonica, Warszawa 1955, 4(3).
- REMKY, H., Bulletin et mémoires de la Société Française d' Ophtalmologie, (1958).

Am Schluß meiner Arbeit danke ich Herrn Professor Dr. med. Wilhelm R o h r s c h n e i d e r für die Gewährung eines Arbeitsplatzes in seiner Klinik.

Herrn Professor Dr. med. Hans R e m k y bin ich für die Anregung zu dieser Arbeit, für die Einführung in die Methodik und Stellung des Themas zu großem Dank verpflichtet; seiner medizinisch-technischen Assistentin Frau L e r c h für mancherlei praktische Unterstützung.

Herrn Medizinaldirektor Dr. med. Anton H o l l w e c k, Leiter des Städtischen Gesundheitsamtes München, und Herrn Dr. med. D. D e r l a t h, von der Städtischen Blutspenderzentrale danke ich für die erstmalig (seit Bestehen der Blutbank) geübte Überlassung von Serumproben gesunder Menschen.

Herrn Privatdozent Dr. med. Walter T r u m m e r t gebührt mein besonderer Dank, da er mir stets mit Rat und Tat zur Seite stand.

Curriculum Vitae

Ich wurde am 10. Juni 1930 in Nürnberg als Sohn des Hans, Stud.prof., Dr.phil., und der Irma Beutner, geb. v.Szenhofen geboren. Mein Vater starb 1945. Mein Bruder Winfried hat denselben Beruf wie mein Vater. Von 1936 - 1949 besuchte ich die Volks- und Oberschule in München. Nach dem Abitur arbeitete ich in Industrie und Bank und schloß mein Studium auf der Hochschule für Wirtschafts- und Sozialwissenschaften in Nürnberg mit dem Diplom-Kaufmann ab. 1954 bis 1959 studierte ich auf der Universität München Medizin. Seit 1.1.1960 arbeite ich als Medizinalassistent in Münchner Universitätskliniken.

